

Andrzej Brymora¹, Mariusz Flisiński¹, Grzegorz Grześk²,
Leszek Szadujkis-Szadurski², Jacek Manitius¹

PRACA ORYGINALNA

¹Katedra i Klinika Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra i Zakład Farmakologii i Terapii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

Analiza reakcji izolowanej tętnicy ogonowej szczura z przewlekłą, eksperymentalną niewydolnością nerek na działanie angiotensyny II

Analysis of vasoconstrictive responses to angiotensin II in rat's isolated tail artery in experimental, chronic renal failure

Summary

Background Recent studies indicate that arterial response to angiotensin II (ANG II) in chronic renal failure is variable. In our study we compared the response of rat tail artery to ANG II in different stages of chronic renal failure (CRF).

Material and methods Male 290–380 g Wistar rats were divided into three groups: 5/6 nephrectomy (n = 11), 3/4 nephrectomy (n = 9) and sham-operation (control n = 12). After 4 weeks blood pressure (BP) in carotid artery was measured and then the tail artery was excised. The proximal segment of artery was cannulated and mounted under 0.5 g tension in organic bath. The constriction of artery in response to ANG II was measured as an increased in perfusion pressure at a constant flow of the perfusion fluid. ANG II was applied into the extraluminal Krebs solution according to van Rossum method.

Results Both 3/4 and 5/6 nephrectomies led to development of CRF and hypertension — the CRF groups had significantly increased blood pressure, serum creatinine and BUN. The tail artery from rats after 3/4 nephrectomy was characterized by decreased reactivity to Ang II (percent of

maximal reaction) for concentration [M/L] 1×10^{-5} (12.7 ± 9.6 vs. 24.7 ± 7.4 ; $p < 0.01$) and 3×10^{-5} (16.9 ± 9.2 vs. 27.8 ± 12.7 ; $p < 0.05$). But the rat tail artery after subtotal nephrectomy (5/6) was characterized by hyperreactivity to ANG II comparing to control group. We found significant correlations for concentrations of ANG II: 1×10^{-5} (36.3 ± 12.6 vs. 24.7 ± 7.4 ; $p < 0.05$), 3×10^{-5} (39.4 ± 11.7 vs. 27.8 ± 12.7 ; $p < 0.05$), 1×10^{-4} (39.8 ± 11.9 vs. 28.7 ± 13.0 ; $p < 0.05$), 3×10^{-4} (40.1 ± 11.5 vs. 29.2 ± 12.9 ; $p < 0.05$).

Conclusion The arterial response to ANG II depends on a stage of chronic renal failure. Various arterial reactivity could be a result of changes in the affinity of the receptor to an agonist, or receptors concentration

key words: angiotensin II, blood pressure, chronic renal failure

Arterial Hypertension 2005, vol. 9, no 2, pages 88–94.

Adres do korespondencji: lek. Andrzej Brymora
Katedra i Klinika Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób
Wewnętrznych Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85–094 Bydgoszcz
tel./faks: (052) 585–40–30, 585–44–51
e-mail: nerka@nerka.mtl.pl



Copyright © 2005 Via Medica, ISSN 1428–5851

Źródło finansowania: grant Akademii Medycznej w Bydgoszczy nr SD 32/2002.

Wstęp

W ostatnich latach gwałtownie wzrasta liczba osób z rozpoznaną przewlekłą niewydolnością nerek. Mimo wzrostu dostępu do leczenia nerkozastępczego pacjenci ci wciąż umierają przedwcześnie z powodu powikłań sercowo-naczyniowych. Śmiertelność wynosi w przybliżeniu 9% rocznie i jest średnio 30 razy większa w porównaniu z grupą osób zdrowych o tej

samej płci i wieku [1]. Mechanizm odpowiedzialny za to zjawisko nie jest do końca poznany, jednak coraz częściej zwraca się uwagę na zmiany zachodzące zarówno w sercu, jak i w naczyniach. Wydaje się, że konwencjonalne czynniki rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych, takie jak: nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, cukrzyca czy dyslipidemia, które występują często w populacji osób z niewydolnością nerek, nie mają takiego samego znaczenia prognostycznego, jak w populacji ogólnej [2].

Stałym elementem patofizjologii licznych chorób układu krążenia jest dysfunkcja śródbłonna naczyniowego [3]. Doprowadza ona do powstania zmian w strukturze ściany naczyniowej, jakimi są zaburzenia składu macierzy pozakomórkowej (wzrost stężenia kolagenu, spadek stężenia elastyny), pogrubienie błony wewnętrznej i przerost komórek mięśni gładkich. Rezultatem tych zmian jest spadek podatności (elastyczności) ściany naczyń, co prowadzi do zmniejszenia przepływu krwi i uszkodzenia dystalnie położonego narządu. Ponadto, zmiany te mogą powstać w mikrokrażeniu ściany naczyń i w ten sposób przyczynić się do formowania blaszki miażdżycowej. Uszkodzenie śródbłonna niezależnie, czy jest spowodowane nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą, podwyższonym stężeniem cholesterolu, paleniem tytoniu, czy też wynika z naturalnego procesu starzenia się, wydaje się kluczem do powstania zmian miażdżycowych i związanych z tym powikłań.

Ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za powstanie powikłań sercowo-naczyniowych jest układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA). Od wielu lat wiadomo, że niewydolności nerek towarzyszy wzmożona aktywność układu RAA. W latach 70. ubiegłego wieku zauważono, iż angiotensyna II (ANG II) ma niekorzystny wpływ na serce i nerki oraz że pacjenci z wysokim stężeniem reniny w osoczu charakteryzują się większym ryzykiem rozwoju udaru mózgu i zawału serca [4]. Dalsze badania, w których zastosowano substancje farmakologiczne, ingerujące w aktywność układu RAA, pozwoliły poznać dokładniej wpływ ANG II na kontrolę ciśnienia tętniczego i patogenezę takich chorób, jak: nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca czy też niewydolność nerek [5]. Okazało się bowiem, że działanie wazokonstrykcyjne ANG II, o którym donoszono w pierwszych pracach wykonywanych przede wszystkim na naczyniach izolowanych, nie jest jedynym (choć podstawowym) działaniem. W toku przeprowadzonych doświadczeń poznano jej wpływ na aktywność układu współczulnego, regulację wydzielania hormonów i na gospodarkę wodno-elektrolitową. Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach ujawniły fakt, że ANG II reguluje procesy troficzne

i plastyczne, powodując przebudowę ściany naczyń. Większość opisywanych, niekorzystnych działań ANG II występuje pod wpływem aktywacji receptorów AT_1 . Jednak w ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się receptorom AT_2 [6, 7]. Wyniki licznych badań wskazują, że stymulacja tych receptorów ma działanie przeciwne do pobudzania receptorów AT_1 [8, 9]. Na podstawie eksperymentów z ostatnich lat wiadomo, że w przewlekłej niewydolności nerek dochodzi do wzrostu ekspresji mRNA dla receptorów AT_2 [10]. Dlatego też celem pracy stała się analiza reakcji izolowanej tętnicy ogonowej szczura na działanie angiotensyny w różnych stadiach niewydolności nerek. Nie wiadomo bowiem, w którym momencie dochodzi do powstania zmienionej reakcji naczyniowej. Ponadto, wobec tak wielu innych zaburzonych w przewlekłej niewydolności nerek mechanizmów regulujących napięcie naczyniowe (np. układu tlenku azotu, endoteliny, układu współczulnego), reakcja ta jest trudna do przewidzenia.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar. W momencie rozpoczynania eksperymentu ich waga wynosiła 290–380 g. Zwierzęta przebywały w osobnych klatkach, gdzie przez cały okres badania miały zapewniony wolny dostęp do wody i pożywienia. Rytm dobowy światła był kontrolowany sztucznym oświetleniem i został podzielony na 2 części trwające 12 godzin — faza jasna od godziny 6.00 do godziny 18.00 oraz faza nocna od godziny 18.00 do godziny 6.00 rano. Po okresie tygodniowej adaptacji przeprowadzono zabieg prowadzący do wytworzenia przewlekłej niewydolności nerek, polegający na chirurgicznej ablacji odpowiedniej ilości miąższu nerki. Ciało przecinano od strony powłoki grzbietowej, docierając do prawej nerki, którą po podwiązaniu naczyń nerkowych usuwano. Następnie po przecięciu skóry i mięśni docierano do lewej nerki, gdzie w zależności od podgrupy usuwano 2/3 kory nerki (nefrektomia 5/6; subtotalna) lub 1/2 kory nerki (nefrektomia 3/4). Szczury z grupy kontrolnej poddano zabiegowi pozorowanej nefrektomii, polegającej na przecięciu skóry i mięśni, a następnie zszyciu ich bez jakiegokolwiek naruszania tkanki nerkowej. We wszystkich grupach po zszyciu powłok skóry podawano dootrzewnowo 10 ml soli fizjologicznej celem nawodnienia. Po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego mierzono ciśnienie tętnicze przy użyciu cewnika umieszczonego w tętnicy szyjnej. Za ostateczną wartość ciśnienia przyjęto wartość pomiaru dokonanego w 5. minucie od wprowadzenia kaniuli. Kolejnym etapem eksperymentu była izo-

lacja i perfuzja tętnicy ogonowej zgodnie z metodą Nicholasa [11]. Naczynie pobierano i oczyszczano z otaczających tkanek. Następnie w jej odcinek proksymalny o długości około 2 cm wprowadzano kaniulę połączoną z przetwornikiem ciśnienia tętniczego, miernikiem ciśnienia i pompą perfuzyjną zapewniającą perystatyczny przepływ płynu Krebsa przez naczynie. Tak przygotowaną tętnicę umieszczano w naczyniu do narządów izolowanych, stosując napięcie spoczynkowe około 0,5 g. We wstępnej fazie eksperymentu naczynia stabilizowano przez około 2 godziny w natlenionym płynie Krebsa, zwiększając stopniowo przepływ płynu perfuzyjnego od 0,25 do 1,0 ml/min, do osiągnięcia ciśnienia perfuzyjnego w zakresie 2–4 kPa. Przygotowaną tętnicę umieszczano w naczyniu wypełnionym natlenionym (mieszanina 80% O₂ i 20% CO₂) płynem Krebsa o składzie: KCL (4,7 mM), MgSO₄ (2,4 mM), KH₂PO₄ (1,2 mM), NaCl (71,8 mM), NaHCO₃ (28,4 mM), glukoza (11,1 mM), CaCl₂ (1,7 mM) i temperaturze 37°C przy pH równym 7,4. Reakcję tętnicy ogonowej badano w odpowiedzi na ANG II, którą podawano zewnątrznaczyniowo zgodnie z teorią wzrastających stężeń van Rossuma [12] — stężenia wynosiły (w [m/l]) 1×10^{-5} , 3×10^{-5} , 1×10^{-4} , 3×10^{-4} , 1×10^{-3} oraz 3×10^{-3} . Za wykładnik skurczu naczynia w odpowiedzi na agonistę przyjęto zmianę ciśnienia perfuzyjnego przy stałej szybkości przepływu perfuzatu (ok. 1 ml/min). Między kolejnymi doświadczeniami stosowano 30-minutowe przerwy w celu uniknięcia zjawiska tachyfilaksji. System rejestracyjny składał się z przetwornika ciśnienia tętniczego (P.I.A.P., typ CK-0,1), miernika ciśnienia (TEMED, typ MCK 0115), pompy perfuzyjnej (ZALIMP, typ 315) oraz rejestratora (Laboratori Pstroje Praha, typ TZ 2620).

Badania przeprowadzono po wcześniejszej akceptacji Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń w Bydgoszczy (wniosek nr 7/2002, nr opinii 5/2002 z 17.06.2002 roku).

Analizę wyników badań przeprowadzono na podstawie testu *t*-Studenta oraz testu U Manna-Whitneya.

Wyniki

Po 4 tygodniach od zabiegu chirurgicznego usunięcia miększu nerkowego obserwowano wykształcenie się obrazu przewlekłej niewydolności nerek. Stopień jej zaawansowania zależał od ilości usuniętego miększu nerki i charakteryzował się odpowiednim wzrostem biochemicznych wykładników niewydolności nerek — stężenia kreatyniny oraz azotu mocznika (BUN, *blood urea nitrogen*) (tab. I).

U zwierząt poddanych resekcji tkanki nerkowej obserwowano znamieny statystycznie wzrost wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego. Najwyższe wartości zarejestrowano u szczurów po zabiegu subtotalnej nefrektomii.

Zasadniczym celem eksperymentu było przeprowadzenie analizy reakcji tętnicy ogonowej szczura na działanie ANG II. Reakcję skurczową naczynia wyzwalano wzrastającymi stężeniami ANG II (od 1×10^{-5} do 3×10^{-3} m/l) (tab. II).

We wszystkich badanych grupach po podaniu ANG II obserwowano zmianę ciśnienia perfuzyjnego wynikającego z jej działania wazokonstrykcyjnego. Jednak stopień tej reakcji nie korelował z wartościami ciśnienia tętniczego. Ponadto zarejestrowane krzywe zależności dawka angiotensyny–efekt wazokonstrykcyjny różniły się w poszczególnych grupach i nie były proporcjonalne do stopnia niewydolności nerek, określonej na podstawie wielkości parametrów kreatyniny oraz BUN. Izolowane tętnice ogonowe szczurów po usunięciu 75% miększu nerki wykazywały obniżoną reaktywność na podawaną ANG II w porównaniu z grupą kontrolną (wartości znamienne statystycznie osiągnięto dla najniższych stężeń agonisty).

Tabela I. Wpływ wielkości resekcji tkanki nerkowej na stężenie BUN oraz kreatyniny w surowicy krwi szczura

Table I. Parameters of renal failure after renal mass reduction

	BUN [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]
Grupa I (kontrola), n = 12	27,36 ± 4,54	0,63 ± 0,13
Grupa II (nefrektomia 3/4), n = 9	47,75 ± 3,40	0,77 ± 0,08
Grupa III (nefrektomia 5/6), n = 11	74,45 ± 13,85	1,21 ± 0,2
p I vs. II	< 0,0001	= 0,055
p I vs. III	< 0,001	< 0,001
p II vs. III	< 0,01	< 0,01

Test *t*-Studenta

Tabela II. Wpływ doświadczalnej przewlekłej niewydolności nerek na wartości ciśnienia tętniczego**Table II.** Correlation between grade of chronic renal failure and blood pressure

	Skurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	Rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]
Grupa I (kontrola), n = 12	116 ± 4,1	73,12 ± 4,7
Grupa II (nefrektomia 3/4), n = 9	132,5 ± 4,2	88 ± 2,44
Grupa III (nefrektomia 5/6), n = 11	151,2 ± 3,7	100,4 ± 2,7
p I vs. II	0,001	< 0,001
p I vs. III	< 0,0001	< 0,0001
p II vs. III	< 0,001	< 0,001

Test t-Studenta

Natomiast przeprowadzenie subtotalnej nefrektomii prowadziło do powstania nadreaktywności badanego naczynia w porównaniu z grupą kontrolną (wartości znamienne statystycznie występowały także po zastosowaniu wyższych stężeń agonisty).

Dokładne wartości wielkości skurczu naczynia wyrażonego w procentach odpowiedzi maksymalnej przedstawiono w tabeli III oraz na rycinie 1.

Dyskusja

W prezentowanej pracy przewlekłą niewydolność nerek wytworzono poprzez zabieg chirurgicznego wycięcia odpowiedniej ilości mięszu nerki. Jest to jeden z modeli referencyjnych wykorzystywanych w badaniach eksperymentalnych [13]. Analizę reakcji izolowanej tętnicy ogonowej szczura przeprowadzono po 4 tygodniach od zabiegu operacyjnego. Wybór terminu wynika z faktu, że wzrost stężenia

kreatyniny i BUN pojawia się już po 2 tygodniach i utrzymuje się w sposób zasadniczo niezmienny do około 8 tygodnia, po czym ponownie narasta [14]. Ponadto, redukcja mięszu nerki doprowadzała do powstania nadciśnienia tętniczego proporcjonalnego do ilości usuniętej tkanki nerkowej.

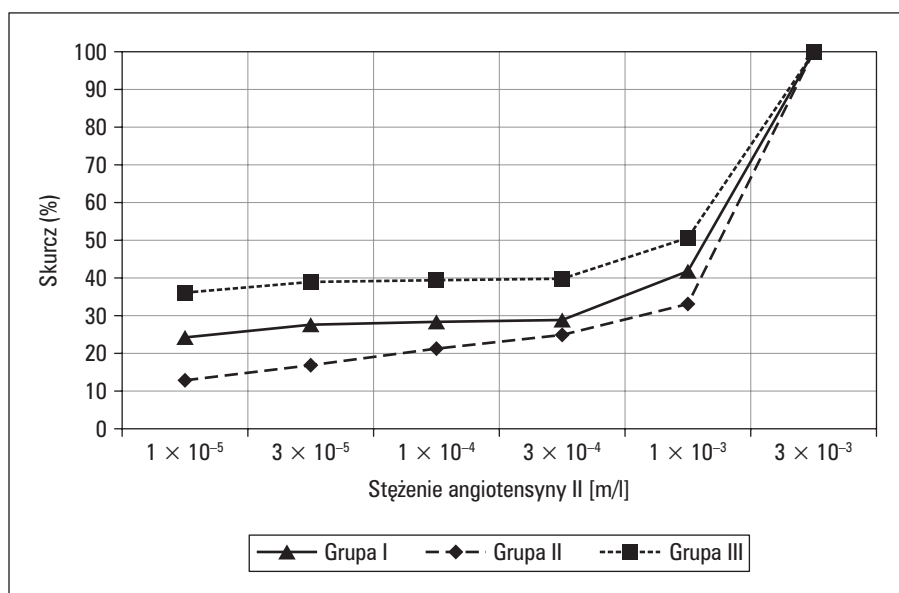
Celem pracy była ocena wpływu stopnia zaawansowania niewydolności nerek oraz wysokości ciśnienia tętniczego na reakcję izolowanej tętnicy ogonowej szczura po stymulacji ANG II. O napięciu ściany naczynia decyduje wzajemne oddziaływanie czynników wazokonstrykcyjnych i wazodylatacyjnych. Za część skurczową napięcia odpowiedzialna jest głównie regulacja miogenna, a za część rozkurczową regulacja metaboliczna i śródbłonkowa. W naczyniach o średnicy 50–80 μm dominuje regulacja miogenna, a w segmentach o średnicy 80–150 μm — regulacja zależna od śródbłonka naczyniowego [15].

Do oceny reaktywności naczynia wybrano tętnicę ogonową szczura. Jest ona bowiem łatwo dostępnym

Tabela III. Skurcz naczynia (%) w odpowiedzi maksymalnej na angiotensynę II (stężenie w [m/l])**Table III.** Vasoconstrictor response (%) to ANG II [M/L]

Grupa	1×10^{-5}	3×10^{-5}	1×10^{-4}	3×10^{-4}	1×10^{-3}	3×10^{-3}
I (kontrola)	24,7 ± 7,4 (13,7–38,5)	27,8 ± 12,7 (15,7–62,5)	28,7 ± 13,0 (17,1–62,5)	29,2 ± 12,9 (17,1–62,5)	41,9 ± 21,2 (20,0–87,5)	100 ± 0
II (nefrektomia 3/4)	12,7 ± 9,6 (0–21,8)	16,9 ± 9,2 (0–26,1)	21,2 ± 12,4 (2,0–39,1)	25,0 ± 15,3 (4,0–52,1)	33,2 ± 18,3 (6,0–69,6)	100 ± 0
III (nefrektomia 5/6)	36,3 ± 12,6 (21,0–59,5)	39,4 ± 11,7 (23,1–59,5)	39,8 ± 11,9 (23,1–59,5)	40,1 ± 11,5 (26,3–59,5)	50,7 ± 14,3 (26,3–75,9)	100 ± 0
p I vs. II	< 0,01	< 0,05	NS	NS	NS	NS
p I vs. III	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	NS	NS
p II vs. III	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,05	< 0,05	NS

Test U Manna-Whitneya (w nawiasie podano wartości minimum i maksimum)



Rycina 1. Skurcz naczyń (%) w odpowiedzi maksymalnej na angiotensynę II [m/l]

Figure 1. Vasoconstrictor response (%) to ANG II [M/L]

i dobrym przykładem tętnicy oporowej. Reakcję naczyń wywoływano po podaniu ANG II, a dochodziło do niej na skutek pobudzenia swoistych receptorów. Najlepiej poznanymi i zarazem głównymi receptorami dla ANG II są receptory AT_1 oraz AT_2 [16, 17]. W przeprowadzonym eksperymencie skurcz naczyń wynikał z aktywacji receptorów AT_1 , jednak na wielkość tej reakcji niewątpliwie wpływała pula receptorów AT_2 .

Warto podkreślić, że w ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się receptorom AT_2 . Wyniki licznych badań wskazują, iż stymulacja receptorów AT_2 wykazuje przeciwne działanie do pobudzania receptorów AT_1 [8, 9]. W układzie krążenia pod wpływem aktywacji receptorów AT_2 dochodzi do wazodylatacji na skutek uwalniania NO, PGI_2 i bradykininy [18–21]. Wykazano, że krótkotrwała (*in vivo*) stymulacja receptorów AT_2 u szczurów z nadciśnieniem tętniczym powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego [22]. W prezentowanej pracy nie stosowano selektywnych agonistów oraz antagonistów poszczególnych receptorów. Dlatego też analizowano sumaryczną reakcję wynikającą z pobudzenia obu receptorów. Niewątpliwie naturalnym faktem było stwierdzenie wzrostu ciśnienia perfuzyjnego w badanym naczyniu po podaniu ANG II, natomiast ku zaskoczeniu autorów niniejszej pracy wielkość tego wzrostu nie była zależna od wartości zmierzonego wcześniej ciśnienia systemowego, ale od stopnia niewydolności nerek. Tętnica ogonowa szczura po usunięciu 75% masy nerki charakteryzowała się zmniejszoną reaktywnością na podawaną ANG II w stosunku do naczyń pobranych od zwierząt z grupy

kontrolnej. Istotnie statystycznie różnice obserwowano dla najmniejszych stosowanych stężeń (1×10^{-5} oraz 3×10^{-5} m/l). Natomiast subtotalna nefrektomia prowadziła do rozwoju nadreaktywności naczyń obserwowanej w stosunku do zwierząt zdrowych i jeszcze bardziej zaznaczonej (w szerokim zakresie stężeń od 1×10^{-5} do 1×10^{-3} m/l) w stosunku do szczurów po nefrektomii 75% masy nerek. Dlatego też należy przypuszczać, że w pierwszych etapach rozwoju niewydolności nerek istnieją mechanizmy kompensacyjne, które próbują złagodzić postęp rozwijającej się patologii. Jednak wraz z postępem niewydolności nerek dochodzi do dalszego uszkodzenia śródbłonna, co może powodować zmniejszoną aktywność układu tlenu azotu.

Prawdopodobną przyczyną obserwowanych różnic w reakcji na ANG II są zmiany puli poszczególnych typów receptorów (AT_1 i AT_2). Z opublikowanych dotychczas badań wiadomo, że ich ekspresja może się zmieniać nie tylko pod wpływem wzrostu ciśnienia tętniczego, ale także w niewydolności nerek. Jednak wciąż brak jest prac, które analizowałyby ekspresję poszczególnych typów receptorów w różnych stadiach niewydolności nerek.

Wang i wsp. wykazali, że u zwierząt z indukowanym ANG II nadciśnieniem tętniczym już w 10. dobie obserwacji stwierdza się redukcję ekspresji białka dla receptorów AT_1 przy niezmienionej ekspresji dla receptorów AT_2 [23]. Natomiast Harrison-Bernard i wsp. stwierdzili, że ciągły wlew małych dawek ANG II nie zmieniał ilości receptorów AT_1 (określonej metodą PCR oraz *Western-Blot*) [24].

Zmniejszona reaktywność tętnicy ogonowej szczura po usunięciu 75% mięzszy nerki może wynikać z wcześniejszych obserwacji Bautisty i wsp., którzy przeprowadzili analizę ekspresji mRNA dla receptorów AT_1 oraz AT_2 u szczurów z niewydolnością nerek, stwierdzając, że ekspresja mRNA dla receptorów AT_1 była taka sama u zwierząt z niewydolnością nerek jak i u szczurów poddanych zabiegowi pozorowanej nefrektomii. Natomiast ekspresja mRNA dla receptorów AT_2 w grupie zwierząt zdrowych była bardzo mała, podczas gdy u szczurów z niewydolnością nerek znacząco podwyższona [10]. Mechanizm wzrostu ekspresji mRNA dla receptorów AT_2 nie jest znany. Jednakże, opierając się na mechanizmie *up regulation* dla receptorów angiotensyny w wyniku stymulacji układu RAA i podwyższonego stężenia ANG II w nadciśnieniu nerkopochodnym możliwe jest, że zwiększona ekspresja mRNA dla receptorów AT_2 jest spowodowana wzrostem stężenia ANG II.

Z badań Matrougui i wsp. przeprowadzonych na tętnicach krezkowych szczura wynika, że aktywacja śródbłonkowych receptorów AT_2 przez endogenną ANG II i powstała w ten sposób wazodylatacja są ważnymi czynnikami kompensującymi wzrost napięcia naczyń w wyniku przepływu krwi i powstającej siły ścinającej [25]. Ponadto Widdop i wsp., przeprowadzając badanie na izolowanej tętnicy oporowej szczura (*a. mesenterica*), stwierdzili, że stymulacja receptorów AT_2 powoduje rozkurcz naczyń bez zjawiska desensytywizacji [26].

Należy podkreślić, że dokładna analiza wyników eksperymentu opisywanego w niniejszym artykule, szczególnie w odniesieniu do wcześniej cytowanych prac (opierających się na badaniu puli poszczególnych receptorów dla ANG II), będzie wymagała zastosowania selektywnego agonisty receptorów AT_2 (CGP 42112) oraz antagonisty receptorów AT_2 (PD 123319).

Analiza reakcji izolowanej tętnicy ogonowej pobranej od szczurów po subtotalnej nefrektomii pokazała, że opisany powyżej mechanizm kompensacyjny staje się niewystarczający w bardziej zaawansowanym stadium choroby. Być może obserwowana przez autorów nadreaktywność naczyń wynika z faktu, że dopiero na tym etapie niewydolności nerek pojawia się opisywana przez Wevera i wsp. zaburzona synteza tlenu azotu [27]. Wiadomo bowiem, że wazodylatacja zależna od pobudzenia receptorów AT_2 zachodzi między innymi na skutek uwalniania tlenu azotu. Ponadto, należy przypuszczać, że wraz z progresją niewydolności nerek dochodzi do wzrostu stopnia uszkodzenia śródbłonka naczyniowego. W badaniach Annuk i wsp. [28, 29] wykazano związek w przewlekłej niewydolności nerek między wzrostem stężenia produktów stresu

oksydacyjnego a uszkodzeniem wazodylatacji zależnej od śródbłonka naczyniowego.

Wyniki badania autorów niniejszej pracy potwierdzają dane wynikające z niektórych wcześniej opisanych doniesień. Można więc przypuszczać, że w trakcie początkowych faz uszkodzenia nerek i rozwoju nadciśnienia tętniczego dochodzi do aktywacji mechanizmów antyhipertensyjnych, których celem jest złagodzenie toczącej się patologii.

Wnioski

Zmniejszona reaktywność naczyń w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek na presyjne działanie ANG II być może jest spowodowana zmianą czynności receptorów w stosunku do ANG II.

Streszczenie

Wstęp Wyniki dotychczasowych badań reakcji tętnicy na angiotensynę II (ANG II) w przewlekłej niewydolności nerek nie są jednoznaczne. Celem eksperymentu było porównanie reakcji tętnicy ogonowej szczura na ANG II w zależności od stopnia niewydolności nerek.

Materiał i metody Dorosłe szczury szczepu Wistar, płci męskiej (290–380 g), poddano chirurgicznemu wytworzeniu przewlekłej niewydolności nerek — nefrektomia 5/6 ($n = 11$), nefrektomia 3/4 ($n = 9$); grupa kontrolna — pozorowana nefrektomia ($n = 12$). Po 4 tygodniach dokonano pomiaru ciśnienia tętniczego i przeprowadzono izolację oraz perfuzję tętnic zgodnie z metodą Nicholasa, polegającą na wypreparowaniu tętnicy i wprowadzeniu w jej odcinek proksymalny kaniuli połączonej z przetwornikiem i miernikiem ciśnienia oraz pompą perfuzyjną zapewniającą przepływ płynu Krebsa przez naczynie. Angiotensynę II podawano zewnątrznaczyniowo zgodnie z teorią wzrastających stężeń van Rossuma.

Wyniki W porównaniu z grupą kontrolną u szczurów z przewlekłą niewydolnością nerek stwierdzono znamienne statystycznie wzrost w wielkości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego, BUN oraz stężenia kreatyniny. Po usunięciu 75% mięzszy nerki tętnica ogonowa charakteryzowała się zmniejszoną reaktywnością wyrażoną jako procent w odpowiedzi maksymalnej na podawaną ANG II w stężeniu $[m/l]$ 1×10^{-5} ($12,7 \pm 9,6$ vs. $24,7 \pm 7,4$; $p < 0,01$) oraz 3×10^{-5} ($16,9 \pm 9,2$ vs. $27,8 \pm 12,7$; $p < 0,05$). Natomiast tętnica zwierząt po subtotalnej nefrektomii wykazywała wzmożoną reaktywność na podawaną ANG II

w stężeniach (w [m/l]): 1×10^{-5} ($36,3 \pm 12,6$ vs. $24,7 \pm 7,4$; $p < 0,05$), 3×10^{-5} ($39,4 \pm 11,7$ vs. $27,8 \pm 12,7$; $p < 0,05$), 1×10^{-4} ($39,8 \pm 11,9$ vs. $28,7 \pm 13,0$; $p < 0,05$), 3×10^{-4} ($40,1 \pm 11,5$ vs. $29,2 \pm 12,9$; $p < 0,05$).

Wnioski Reakcja tętnicy ogonowej szczura na podawaną ANG II zależy od stopnia niewydolności nerek. Zmienna reakcja na ANG II może wynikać ze zmiany puli receptorów oraz ich powinowactwa do agonisty.

słowa kluczowe: angiotensyna II, ciśnienie tętnicze, przewlekła niewydolność nerek

Nadciśnienie Tętnicze 2005, tom 9, nr 2, strony 88–94.

Piśmiennictwo

1. Foley N.R., Parfrey S.P., Sarnak M.J. Cardiovascular disease in chronic renal failure. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 1998; 32 (supl.): S112–S119.
2. Cheung A.K., Sarnak M.J., Yan G. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000; 58: 353–362.
3. Rubanyi G.M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993; 22 (supl.) 4: S1–S14.
4. Gavras H., Brown J.J., Lever A.F. i wsp. Acute renal failure, tubular necrosis and myocardial infarction induced in the rabbit by intravenous angiotensin II. *Lancet* 1971; 2: 19–22.
5. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation* 2001; 103: 904–912.
6. Widdop R.E., Jones E.S., Hannan R.E., Gaspari T.A. Angiotensin AT₂ receptors: cardiovascular hope or hype. *Br. J. Pharmacol.* 2003; 140: 809–824.
7. Blume A., Kaschina E., Unger T. Angiotensin II type receptors: signalling and pathophysiological role. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2001; 10: 239–246.
8. Horiuchi M., Akishita M., Dzau V.J. Recent progress in angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal disease. *Hypertension* 1999; 33: 613–621.
9. Henrion D., Kubis N., Levy B.I. Physiological and pathophysiological functions of the AT₂ subtype receptor of angiotensin II. From large arteries to the microcirculation. *Hypertension* 2001; 38: 1150–1157.
10. Bautista R., Sanchez A., Hernandez J., Oyekan A., Escalante B. Angiotensin II type AT₂ receptor mRNA expression and renal vasodilatation are increased in renal failure. *Hypertension* 2001; 38: 669–673.
11. Nicholas T.E. A perfused tail artery preparation from the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* 1969; 21: 826–832.
12. Van Rossum J. Cumulative dose-response curves. Technique for the making of dose responses curves in isolated organs and the evaluation of drugs parameters. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1963; 143: 299–330.
13. Gretz N., Waldhern R., Stravch M. The remnant kidney model. W: Gretz N., Strauch M. (red.) *Experimental and genetic rat models of chronic renal failure*. Karger, Basel, Switzerland 1993; 1–28.
14. Horiba N., Kumano E., Watanabe T., Shinkura H., Sugimoto T., Inoue M. Subtotal nephrectomy stimulates cyclooxygenase 2 expression and prostacyclin synthetis in the rat remnant kidney. *Nephron* 2002; 91: 134–141.
15. Mączewski M., Beręsewicz A. Metody czynnościowe oceny funkcji śródbłonna naczyniowego. *Kardiologia Polska* 1998; 48: 50–56.
16. Bottari S.P., De Gasparo M., Steckelings M., Levens N.R. Angiotensin II receptor subtypes: characterization, signalling mechanisms, and possible physiological implications. *Frontiers. Neuroendocrinol.* 1993; 14: 123–171.
17. Blume A., Kaschina E., Unger T. Angiotensin II type receptors: signalling and pathophysiological role. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2001; 10: 239–246.
18. Siragy H.M., Carey R.M. The subtype 2 (AT₂) receptor mediates renal production of nitric oxide in conscious rats. *J. Clin. Invest.* 1997; 100: 264–269.
19. Israel A., Cierco M., Sosa B. Angiotensin AT₂ receptors mediated vasodepressor response to footshock in rats: role of kinins, nitric oxide and prostaglandins. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 394: 103–108.
20. Tsutsumi Y., Matsubara H., Masaki H. i wsp. Angiotensin II type receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. *J. Clin. Invest.* 1999; 104: 925–935.
21. Katada J., Majima M. AT₂ receptor dependent vasodilation is mediated by activation of vascular kinin generation under flow conditions. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 136: 484–491.
22. Barber M.N., Sampey D.B., Widdop R.E. AT₂ receptor stimulation enhances antihypertensive effect of AT₁ receptor antagonist in hypertensive rats. *Hypertension* 1999; 34: 659–665.
23. Wang Z.Q., Millatt L.J., Heiderstadt N.T., Siragy H.M., Johns R.A., Carey R.M. Differential regulation of renal angiotensin subtype AT_{1A} and AT₂ receptor protein in rats with angiotensin-dependent hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 96–101.
24. Harrison-Bernard L.M., El-Dahr S.S., O'Leary D.F., Navar L.G. Regulation of angiotensin II type 1 receptor mRNA and protein in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 340–346.
25. Matrougui K., Loufrani L., Heymes Ch., Levy B.I., Henrion D. Activation of AT₂ receptors by endogenous angiotensin II is involved in flow induced dilation in rat resistance arteries. *Hypertension* 1999; 34: 659–665.
26. Widdop R.E., Matrougui K., Levy B.I., Henrion D. AT₂ receptor-mediated relaxation is preserved after long-term AT₁ receptor blockade. *Hypertension* 2002; 40: 516–520.
27. Wever R., Boer P., Hijmering M. i wsp. Nitric oxide production is reduced in patients with chronic renal failure. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19: 1168–1172.
28. Annuk M., Zilmer M., Lind L., Linde T., Fellstrom B. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001; 12: 2747–2752.
29. Annuk M., Lind L., Linde T., Fellstrom B. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in renal failure in humans. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001; 16: 302–306.